

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004 年 7 月 29 日 (29.07.2004)

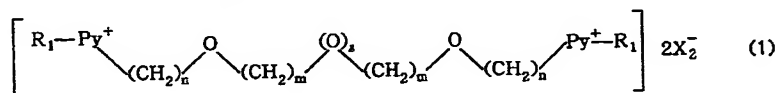
PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/063160 A1

- (51) 国際特許分類: C07D 213/30, 213/68, A61K 31/444, A61P 31/04
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/000284
- (22) 国際出願日: 2004 年 1 月 16 日 (16.01.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2003-008531 2003 年 1 月 16 日 (16.01.2003) JP
- (71) 出願人 および
(72) 発明者: 高麗 寛紀 (KOURAI, Hiroki) [JP/JP]; 〒7710112 徳島県徳島市川内町富吉 230-2 Tokushima (JP).
- (72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 藪原 忠男 (YABUHARA, Tadao) [JP/JP]; 〒7793132 徳島県徳島市一宮町西丁 166 番地 Tokushima (JP).
- (74) 代理人: 吉田 勝広, 外 (YOSHIDA, Katsuhiko et al.); 〒1010025 東京都千代田区神田佐久間町三丁目 30 番地 アコスビル Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: NOVEL QUATERNARY AMMONIUM SALT COMPOUND HAVING ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 抗菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物およびその製造方法



(57) Abstract: A novel quaternary ammonium salt compound having antibacterial activity, characterized by being represented by the following general formula (1): General formula (1) wherein Py represents an optionally substituted pyridine or fused pyridine ring; R₁ represents optionally substituted C₆₋₁₈ alkyl bonded to the nitrogen atom of Py; z is 0 or 1; m is 1, 2, or 3; n is 0, 1, or 2; and X₂ represents an anion.

(続葉有)

WO 2004/063160 A1

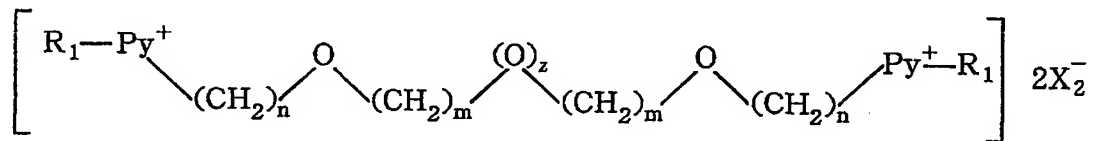
BEST AVAILABLE COPY



(57) 要約:

下記一般式（１）で表されることを特徴とする抗菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物。

一般式（１）



（上記式中、Pyはピリジン環あるいは縮合ピリジン環を、 R_1 はPyの窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基を示し、いずれも置換基を含んでもよい。Zは0または1を、mは1、2または3を、nは0、1または2を示し、 X_2 はアニオンを示す。）

明細書

抗菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物およびその製造方法

5

技術分野

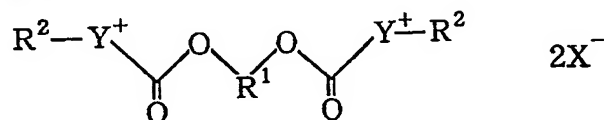
本発明は抗菌活性を有する新規なビス第四級アンモニウム塩化合物およびその製造方法に関する。

10 背景技術

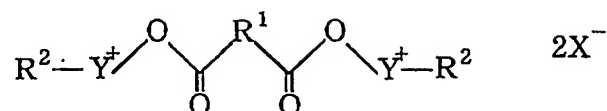
細菌や真菌などに抗菌活性を発揮するビス第四級アンモニウム塩化合物は古くから知られており、現在も抗菌剤として広く実用化されている。しかしながら、現在用いられている抗菌性のビス第四級アンモニウム塩化合物は、通常、抗菌活性は優れているが、同時に生分解生成物の残留毒性も高いため、実際の使用に関しては、環境に対する安全性と水に対する溶解性および安定性に問題があり、その適用範囲には制限があった。また、従来のビス第四級アンモニウム塩化合物は、抗菌力が糖質、蛋白質および脂質などに拮抗され、抗菌力が pH の低い（酸性）領域では低下し、かつ細胞芽胞に効果がないなどの欠点があった。

そこで、下記一般式（A）および（B）で表されるビス第四級アンモニウム塩化合物（特開平8-301703号公報参照）や、

一般式 (A)



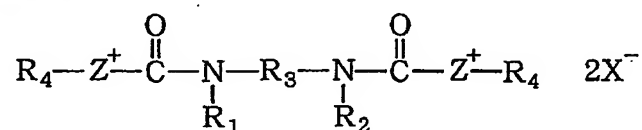
一般式 (B)



(上記式中、Yはピリジン環、キノリン環、イソキノリン環またはチアゾリン環を、R¹は炭素数2～10のアルキレン基あるいはアルケニレン基を、R²はYの窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基を示し、いずれも置換基を含んでもよい。Xはアニオンを示す。)

下記一般式 (C) で表されるビス第四級アンモニウム塩化合物 (特開平10-095773号公報参照)、

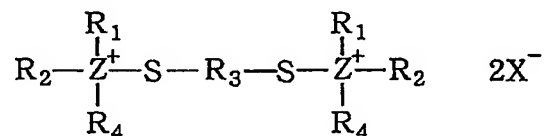
一般式 (C)



(上記式中、Zはピリジン環を示し、R₁およびR₂は同一または異なり、各々水素原子または炭素数1～6のアルキル基を示し、R₃は炭素数3～18のアルケニレン基を示し、R₄はZの環窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基またはアルケニル基を示し、Xはアニオンを示す。)

下記一般式 (D) で表されるビス第四級アンモニウム塩化合物 (特開平6-321902号公報参照) が報告されている。

一般式 (D)



(上記式中、Zはピリジン環またはキノリン環を、R₃は炭素数2～18のアルキレン基あるいはアルケニレン基を、R₄はZの窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基を示し、いずれも置換基を含

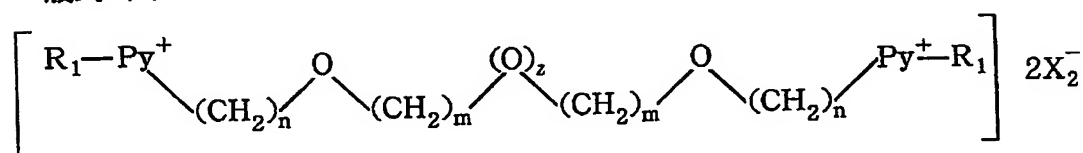
んでもよい。R₁およびR₂は同一または異なって、Zの窒素原子以外の原子に結合した炭素数1～3のアルキル基、水酸基、アミノ基、炭素数1～3のアルコキシ基あるいは水素原子を、Xはアニオンをそれぞれ示す。)

- 5 上記の従来公知のビス第四級アンモニウム塩化合物よりも抗菌活性に極めて優れ、かつ生分解後の化合物は、残留毒性が少なく、地球環境に優しいビス第四級アンモニウム塩化合物の開発が強く望まれている。従って、本発明の目的は、蛋白質などの阻害を受け難く、広範囲のpH領域で強力な殺菌力を有し、広い抗菌スペクトルを示し、
- 10 安全性が高く、かつ使用後に分解して発生する化合物の残留毒性が極めて低い、優れた抗菌活性を有し、極めて安全性の高い、新規なビス第四級アンモニウム塩化合物およびその製造方法を提供することにある。

15 発明の開示

上記目的は以下の本発明によって達成される。すなわち、本発明は、下記一般式(1)

一般式(1)



- (上記式中、Pyはピリジン環あるいは縮合ピリジン環を、R₁はPyの窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基を示し、いずれも置換基を含んでもよい。Zは0または1を、mは1、2または3を、nは0、1または2を示し、X₂はアニオンを示す。)で表される抗菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物を提供する。

また、本発明は、下記一般式(2)で表される4-置換ピリジン系

25 化合物のアルコールと、下記一般式(3)で表されるジハロゲノア

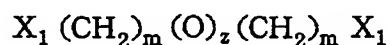
- ルキレンを反応させ、ついで一般式 R_1X_2 (R_1 は炭素数 6 ~ 18 のアルキル基を示し、置換基を含んでもよい。 X_2 はアニオンを示す。) で表される化合物を反応させることを特徴とする下記一般式 (1) で表される抗菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物の製造方法を提供する。

一般式 (2)

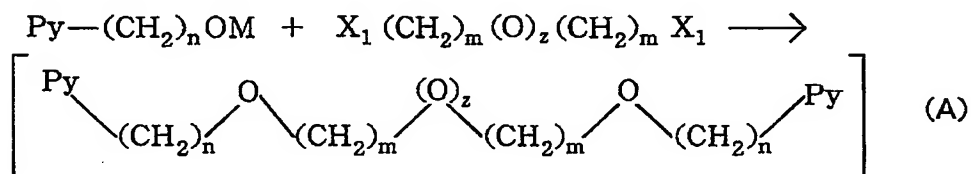


(上記式中、Py はピリジン環あるいは縮合ピリジン環を示し、n は 0、1 または 2 を、M はアルカリ金属原子を示す。)

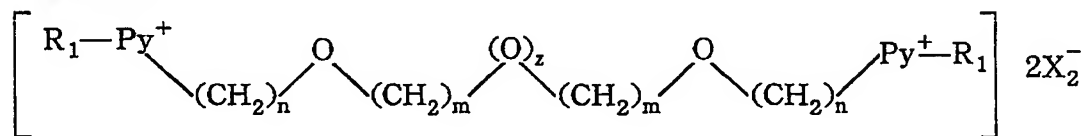
一般式 (3)



- 10 (上記式中、 X_1 はハロゲン原子を示し、m は 1、2 または 3 を、Z は 0 または 1 を示す。)



一般式 (1)



(上記式中、Py、 R_1 、Z、m、n および X_2 は前記と同じ意味である。)

- 15 また、本発明は、上記本発明の前記一般式 (1) で表される新規な

第四級アンモニウム塩化合物を有効成分として含有することを特徴とする抗菌剤を提供する。

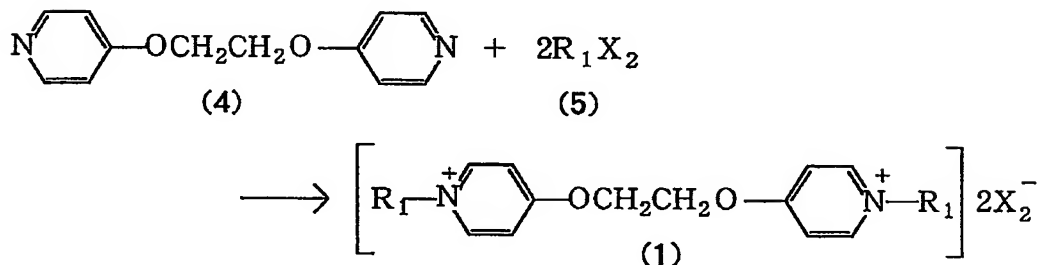
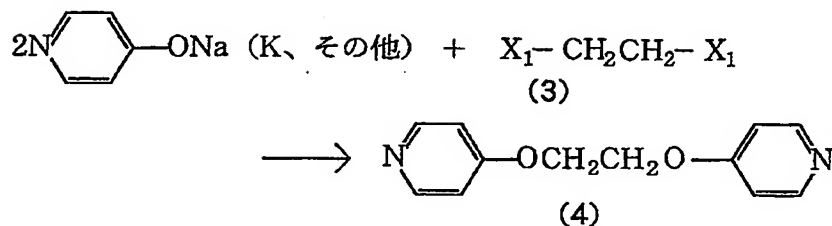
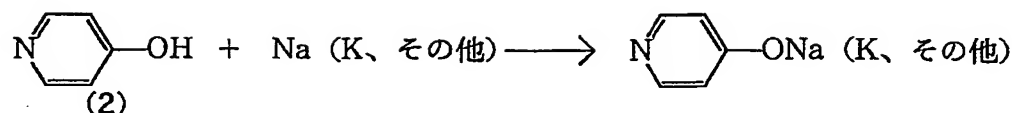
発明を実施するための最良の形態

5 次により好ましい実施の形態を挙げて本発明をより詳細に説明する。

上記一般式(1)の化合物において、 R_1 のアルキル基は、炭素数が6～18の範囲のものが用いられるが、抗菌力の観点から、炭素数8～14の範囲のアルキル基であることがより好ましい。なお、 X_2 で示されるアニオンについては、特に限定されず、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 NO_3^- 、 CH_3COO^- 、および SO_4^{2-} などを含む。なお、アニオンについては、製造工程中、原料として使用する R_1X_2 の X_2 を適当に選択するか、あるいは最終化合物を公知の方法でアニオン交換することによって所望のアニオンを選択できる。

15 次に本発明のビス第四級アンモニウム塩化合物の製造方法の一例を反応式で示すが、本発明はこれらの反応式に限定されるものではない。

例えば、下記式(2)で示される4-ヒドロキシピリジンにアルカリ金属を反応させて得られるアルコラート化合物と、下記式(3)で示されるジハログノエタンを反応させて下記式(4)で示される本発明のビス第四級アンモニウム塩化合物の中間体を得る。さらに、例えば、下記式(4)で示される中間体に下記式(5)で示される炭素数6～18のアルキルハライドを反応させると、下記式(1)で示される本発明の1例のビス第四級アンモニウム塩化合物が得られる。



以上の例示は、前記一般式(1)において、 $m=1$ 、 $n=0$ 、 $Z=0$ の場合の例であり、 m 、 n および Z が他の数値の本発明の化合物も上記と同様な製造方法で得ることができる。

- 5 上記反応は通常有機溶媒中、例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノールなどのアルコール類や、 N 、 N' -ジメチルホルムアミド、 N -メチルホルムアミド、ニトロメタン、ニトロエタン、アセトニトリル、メチルセロソルブ、エチルセロソルブ、クロロベンゼン、塩化エチレンなどの中で、約 $50 \sim 120^\circ\text{C}$ の温度で行うことができる。
- 10 反応時間は通常 $2 \sim 48$ 時間程度とすることができる。

あるいは上記反応は、上記の如き溶媒の存在下に、オートクレーブ中で加圧下、好ましくは約 $10 \sim 100 \text{ MPa}$ (メガパスカル)において約 $50 \sim 100^\circ\text{C}$ の温度で行うこともできる。

- 本発明において使用される前記一般式(2)で表されるアルコール
- 15 と前記一般式(3)で示される化合物との反応割合は厳密に制限されるものではない。上記反応により生成する一般式(1)の化合物は、

通常の分離精製手段、例えば、再結晶操作などにより容易に精製することができる。

以上に述べた方法によって製造される前記一般式(1)で示される化合物におけるアニオン(X_2)は必要に応じて一般的な処理方法によって所望の他のアニオンと交換することができる。アニオン(X_2)は、特に限定されるものでなく、ヨウ素、臭素、フッ素、塩素、ヨウ素酸、臭素酸、塩素酸、過ヨウ素酸、硫酸、塩酸、硝酸、リン酸などの無機酸などのアニオン、有機酸、ヒドロキシ酸類、オキソ酸類、安息香酸類、有機スルホン酸類などのアニオンを挙げることができる。

前記一般式(1)で表される本発明の新規なビス第四級アンモニウム塩化合物は、後記の試験例に示すように、種々の細菌や真菌に対して広い抗菌スペクトルを有しており、しかも、従来の市販の第四級アンモニウム塩などに比べて、 $1/10 \sim 1/100$ の最少殺菌濃度という優れた抗菌活性を示す。特に、現在一般に広く使用されている塩化ベンザルコニウムと比較して約30倍という高い抗菌活性を有しており、しかも急性経口毒性値が極めて低く、強力かつ安全な抗菌剤として極めて有用である。

しかも前記一般式(1)で表される本発明の化合物は、最少殺菌濃度が塩化ベンザルコニウムの1,000分の1以下に低下するため、本発明の化合物の分解生成物も極めて少量となるため、環境に対して優しい抗菌剤といえることができる。

前記一般式(1)で表される本発明の化合物は、特に腐敗菌および変敗菌に対する抗菌力が強く、従って、例えば、スライムコントロール剤や防菌防臭加工繊維製品、皮革製品、建材、木材、塗料、接着剤、プラスチック、フィルム、紙、パルプ、金属加工油、食品、医薬品、化粧品、文房具、畜産分野などにおける抗菌剤として幅広くその応用が期待できる。

本発明の抗菌剤は、前記一般式(1)で表される化合物を有効成分

とする。通常は、水溶液の状態で使用され、その一般的濃度は0.01～20質量%であるが、アルコールなど有機溶剤の溶液でもよいし、固体、顆粒、その他の形状でもよい。また、他の公知の抗菌剤と併用してもよい。該抗菌剤の使用方法は、従来公知の抗菌剤の使用方法和
5 同様であり、特に限定されない。

実施例

次に実施例および試験例により本発明をさらに具体的に説明する。

10 実施例1<4, 4'- (1, 2-ジオキシエチレン)-ジピリジンの合成>

コンデンサー、攪拌機および窒素導入管付き1リットル四つ口フラスコに無水ジメチルホルムアルデヒド300mlと4-ヒドロキシ
ピリジンの白色結晶95.0g (1.00モル)を加え、溶解後金属
15 ナトリウム24.15g (1.05モル)を加え、40℃で、窒素ガ
ス雰囲気および攪拌下、10時間反応を行い、白色スラリー状アルコ
ラートを得た。次いで、該白色スラリー状アルコラートに1, 2-ジ
クロロエタン49.48g (0.50モル)溶液を1時間かけて滴下
した後、同条件下でさらに10時間反応を継続した。反応終了後、過
20 剰の1, 2-ジクロロエタンをエーテル洗浄で除去、次いで水洗浄し
て副生した食塩を除去した。続いてシリカゲル(Wakogel、C
-200)カラムを用いてメタノールで展開し、目的物を分離、濃縮
後、1.32KPa、25℃で24時間真空乾燥し、白色粉末物質9
9.36gを得た。

25 該白色粉末物質は本発明の化合物の中間体である4, 4'- (1,
2-ジオキシエチレン)-ジピリジン(以下、4DOBP-2と略す)
と考えられ、¹H-NMRの測定結果からピリジン環のプロトンが7.
89～7.81ppm(d)と6.49～6.45ppm(d)に、

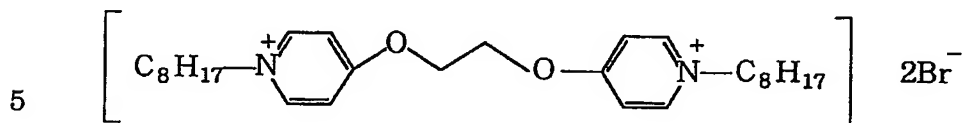
酸素に結合するメチレンプロトンは4.05～4.00 ppm (t) に現れ、それぞれの積分値も一致した。上記4 DOBP-2の元素分析結果は次の通りであった。測定値(理論値) C: 66.73% (66.67%)、H: 5.68% (5.56%)、N: 13.01% (12.96%) で、いずれも0.2%以内の誤差範囲であった。なお、4 DOBP-2の収率は4-ヒドロキシピリジンに対し91.36%であった。

実施例2 < 4 DOBP-2の四級化 >

実施例1で得られた4 DOBP-2の99.36 g (0.46モル) を無水エタノール300 mlに溶解後、コンデンサー、攪拌機および窒素導入管付き四つ口フラスコに入れ、窒素ガス雰囲気および攪拌、還流下、オクチルブロマイド231.60 g (1.20モル) を1.5時間かけて滴下した。滴下終了後、同条件で70時間を継続した。反応終了後、反応混合物を酢酸エチル/エタノール(1:1)の混合溶液で再結晶を3回繰り返した。次いで1.32 KPa、25℃で24時間真空乾燥し、淡黄色粉末状物質241.30 gを得た。

該淡黄色粉末状物質は4, 4'-(1, 2-ジオキシエチレン)ビス(1-オクチル-ピリジウムブロマイド)(以下、4 DOBP-2, 8 (Br) と略す) と考えられ、¹H-NMRの測定結果からピリジン環のプロトンが8.00～7.97 ppm (q) と6.53～6.51 ppm (q) に、酸素に結合するメチレンプロトンは3.51～3.47 ppm (t) に、窒素に直結するメチレンプロトンは4.43～4.35 ppm (t) に、窒素に結合するアルキル基の末端プロトンは0.92～0.89 ppm (t) に、その他の窒素直結アルキレンプロトンは1.40～1.31 ppm (m) に現れ、それぞれの積分値も一致した。4 DOBP-2, 8 (Br) の元素分析結果は次の通りであった。測定値(理論値) C: 55.90% (55.81%)、H: 7.77% (7.64%)、N: 4.60% (4.65%) で、

いずれも 0.2% 以内の誤差範囲であった。なお、4 DOBP-2, 8 (Br) の mp は 123.0 ~ 124.2 °C、収率は 4-ヒドロキシピリジンに対し 80.17% であった。以上の分析結果から 4 DOBP-2, 8 (Br) の構造は下記の通りであることが確認された。



実施例 3 < 4, 4' - (1, 4-ジオキシブチレン) - ジピリジンの合成 >

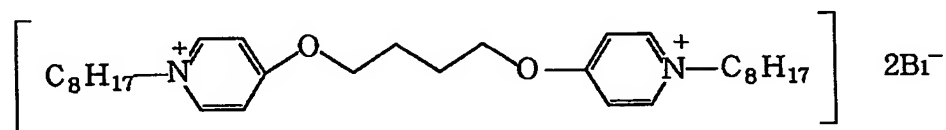
実施例 1 において、1, 2-ジクロロエタン 49.48 g (0.50 モル) の代わりに 1, 4-ジブromobutan 107.96 g (0.50
10 モル) を使用した他は実施例 1 と同様に処理して白色粉末物質 109.98 g を得た。

該白色粉末物質は 4, 4' - (1, 4-ジオキシブチレン) - ジピリジン (以下、4 DOBP-4 と略す) と考えられ、1H-NMR の測定結果からピリジン環のプロトンが 7.78 ~ 7.71 ppm (d) と 6.53 ~ 6.26 ppm (d) に、酸素に結合するメチレンプロ
15 トンは 4.21 ~ 4.00 ppm (t) と 1.85 ~ 1.78 ppm (m) に現れ、それぞれの積分値も一致した。上記 4 DOBP-4 の元素分析結果は次の通りであった。測定値 (理論値) C: 68.80% (68.89%)、H: 6.68% (6.56%)、N: 11.80%
20 (11.84%) で、いずれも 0.2% 以内の誤差範囲であった。なお、4 DOBP-4 の収率は 4-ヒドロキシピリジンに対して 90.15% であった。

実施例 4 < 4 DOBP-4 の四級化 >

実施例 1 において、4 DOBP-2 の 99.36 g (0.46 モル) の代わりに 4 DOBP-4 の 109.98 g (0.45 モル) を用いた他は実施例 1 と同様に処理して淡黄色粉末状物質が得られた。

該淡黄色粉末状物質は4, 4' - (1, 4 - ジオキシブチレン) ビス(1 - オクチル - ピリジウムブロマイド) (以下、4 DOBP - 4, 8 (Br) と略す) と考えられ、¹H - NMR の測定結果からピリジン環のプロトンが8. 00 ~ 7. 97 ppm (q) と6. 53 ~ 6. 51 ppm (q) に、酸素に結合するメチレンプロトンは3. 88 ~ 3. 57 ppm (t) と2. 05 ~ 1. 98 ppm (m) に、窒素に直結するメチレンプロトンは5. 58 ~ 5. 35 ppm (t) に、アルキル基の末端プロトンは1. 00 ~ 0. 97 ppm (t) に、その他の窒素直結アルキレンプロトンは1. 41 ~ 1. 20 ppm (m) に現れ、それぞれの積分値も一致した。上記4 DOBP - 4, 8 (Br) の元素分析結果は次の通りであった。測定値(理論値) C: 57. 20% (57. 14%)、H: 8. 01% (7. 94%)、N: 4. 50% (4. 44%) で、いずれも0. 2% 以内の誤差範囲であった。なお、4 DOBP - 4, 8 (Br) のmpは124. 0 ~ 125. 5℃、収率は4 - ヒドロキシピリジンに対して79. 05% であった。以上の分析結果から4 DOBP - 4, 8 (Br) の構造は下記の通りであることが確認された。



実施例5 < 4 - ヒドロキシエチルピリジンの合成 >

コンデンサー、攪拌機および窒素導入管付き1リットル四つ口フラスコに4 - メチルピリジン150 g (1. 61モル) を入れ、20%ホルマリン溶液180 g (1. 20モル) を窒素ガス雰囲気および攪拌下、130℃で1時間かけて滴下した。滴下終了後、同条件で4時間反応を継続した。反応終了後、未反応の4 - メチルピリジンおよびホルマリンを水蒸気蒸留で留去した。次いで該反応混合物を減圧蒸留し、1. 97 KPa、125 ~ 126℃で無色透明の粘稠液体の4 -

ヒドロキシエチルピリジン 124.89 g を得た。4-ヒドロキシエチルピリジンの収率はホルマリンに対し 95.00% であった。

実施例 6 < 4, 4' - (3, 6-ジオキシオクタメチレン) - ジピリジンの合成 >

- 5 実施例 1 において、4-ヒドロキシピリジン 95.00 g (1.00 モル) に代えて、4-ヒドロキシエチルピリジン 124.89 g (1.02 モル) を用いた他は実施例 1 と同様に処理して白色粉末物質 134.00 g を得た。

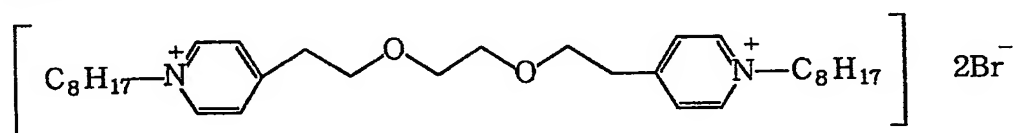
- 該白色粉末物質は本発明の目的化合物の中間体である 4, 4' - (3, 6-ジオキシオクタメチレン) - ジピリジン (以下、4 DOBP-A 2-2 と略す) と考えられ、¹H-NMR の測定結果からピリジン環のプロトンが 8.42 ~ 8.40 ppm (q) と 7.33 ~ 7.32 ppm (q) に、ピリジン環と酸素間のメチレンプロトンは 3.84 ~ 3.81 ppm (t) に、酸素間のメチレンプロトンは 4.15 ~ 4.10 ppm (t) に現れ、それぞれの積分値も一致した。4 DOBP-A 2-2 の元素分析結果は次の通りであった。測定値 (理論値) は C : 70.43% (70.59%)、H : 7.48% (7.35%)、N : 10.10% (10.29%) でいずれも 0.2% 以内の誤差範囲であった。なお、4 DOBP-A 2-2 の収率はホルマリンに対して 82.11% であった。

実施例 7 < 4 DOBP-A 2-2 の四級化 >

- 実施例 1 において、4 DOBP-2 の 99.36 g (0.46 モル) の代わりに、実施例 6 で合成した 4 DOBP-A 2-2 の 134.00 g (0.49 モル) を用いた他は実施例 1 と同様に処理して淡黄色粉末状物質 288.40 g を得た。

該淡黄色粉末状物質は本発明の目的物質である 4, 4' - (3, 6-ジヒドロキシオクタメチレン) ビス (1-オクチル-ピリジウムブロマイド) (以下、4 DOBP-A 2-2, 8 (Br) と略す) と考

えられ、 $^1\text{H-NMR}$ の測定結果からピリジン環のプロトンが7.95～7.90 ppm (q)と6.67～6.50 ppm (q)に、酸素に結合するメチレンプロトンは3.98～3.67 ppm (t)と2.15～2.08 ppm (m)に、窒素に直結するメチレンプロトンは5.68～5.45 ppm (t)に、アルキル基の末端プロトンは、1.02～0.96 ppm (t)に、その他の窒素に直結するアルキレンプロトンは、1.43～1.30 ppm (m)に現れ、それぞれの積分値も一致した。4DOB P-2A-2, 8 (Br)の元素分析結果は次の通りであった。測定値(理論値)はC: 58.30% (58.36%)、H: 8.11% (8.21%)、N: 4.20% (4.26%)でいずれも0.2%以内の誤差範囲であった。なお、4DOB P-A2-2, 8 (Br)のmpは126.5～127.0℃、収率はホルマリンに対して74.60%である。以上の分析結果から4DOB P-A2-2, 8 (Br)の構造は下記の通りであることが確認された。



実施例8<4, 4'-(1, 8-ジヒドロキシオクタメチレン)ビス(1-オクチル-ピリジウムブロマイド)(以下4DOB P-6, 8 (Br)と略す)の合成>
 20 ・4DOB P-6, 8 (Br)の中間体である4, 4'-(1, 8-ジヒドロキシオクタメチレン)ジピリジンの合成

実施例1において、1, 2-ジクロロエタンの49.48 g (0.50モル)の代わりに、1, 6-ジブromoエタンの121.99 g (0.50モル)を使用した他は実施例1と同様に処理して白色粉末物質110.50 gを得た。

該白色粉末物質は4DOB P-6, 8 (Br)の中間体である4,

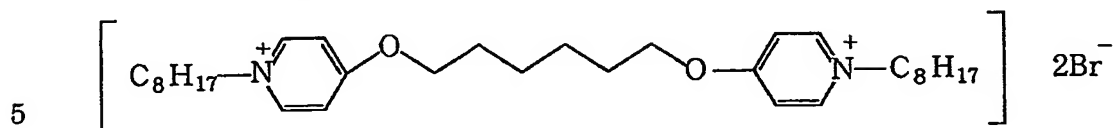
4' - (1, 8 - ジヒドロキシオクタメチレン) ジピリジン (以下 4 DOBP-6 と略す) と考えられ、¹H-NMR の測定結果からピリジン環のプロトンが 7.81 ~ 7.80 ppm (d) と 6.45 ~ 6.43 ppm (d) に、酸素に結合するメチレンプロトンは 3.99 ~ 3.96 ppm (t) に、酸素原子間のその他のアルキレンプロトンは 1.80 ppm (m) と 1.36 ppm (m) に現れ、それぞれの積分値も一致した。4 DOBP-6 の元素分析結果は次の通りであった。測定値 (理論値) は C : 70.48 % (70.59 %)、H : 7.28 % (7.35 %)、N : 10.30 % (10.29 %) であり、いずれも 0.2 % 以内の誤差範囲であった。なお、4 DOBP-6 の収率は 4 - ヒドロキシピリジンに対し 81.25 % であった。

実施例 9 < 4 DOBP-6 の四級化 >

実施例 1 において、4 DOBP-2 の 99.36 g (0.46 モル) の代わりに 4 DOBP-6 の 110.50 g (0.41 モル) を用いた他は実施例 1 と同様に処理して淡黄色粉末状物質 240.21 g が得られた。

該淡黄色粉末状物質は 4 DOBP-6, 8 (Br) と考えられ、¹H-NMR の測定結果からピリジン環のプロトンが 8.80 ~ 8.78 ppm (m) と 7.53 ~ 7.51 ppm (m) に、酸素に結合するメチレンプロトンは 4.51 ~ 4.47 ppm (t) に、その他のアルキレンプロトンは 2.00 ~ 1.85 ppm (m) に、窒素に直結するメチレンプロトンは 5.58 ~ 5.35 ppm (t) に、アルキル基の末端プロトンは 0.92 ~ 0.89 ppm (t) に、その他の窒素直結アルキレンプロトンは 1.52 ~ 1.31 ppm (m) に現れ、それぞれの積分値も一致した。4 DOBP-6, 8 (Br) の元素分析結果は次の通りであった。測定値 (理論値) は C : 50.86 % (51.06 %)、H : 6.98 % (7.18 %)、N : 3.67 % (3.72 %) であり、いずれも 0.2 % 以内の誤差範囲であつ

た。なお、4DOB P-6, 8 (Br) の m p は 123.0 ~ 124.0 °C、収率は4-ヒドロキシピリジンに対し73.03%であった。以上の分析結果から4DOB P-6, 8 (Br) の構造は下記の通りであることが確認された。



試験例1 <本発明の化合物(1)の各種細菌に対する静菌活性>

本発明の化合物(1)として実施例2で得られた4DOB P-2, 8 (Br)、実施例4で得られた4DOB P-4, 8 (Br) および
10 実施例7で得られた4DOB P-2A-2, 8 (Br)を用いた。対照化合物には塩化ベンザルコニウムを用いて最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

最小発育阻止濃度(MIC)の測定は一般的なブロス希釈法に従い、ニュートリエントブロスを用いて、菌懸濁濃度が 10^6 cell/ml になるように調整した定常期状態の菌液を段階希釈した薬剤溶液と
15 混合し、37°C、24時間静置培養後、増殖の有無によりMIC値を決定した。

供試菌としてグラム陰性菌10種およびグラム陽性菌6種を用いた。その結果を表1に示す。

表1：静菌スペクトル

| 供試菌：細菌類 | MIC (μ M) | | | |
|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---|-----------------------|
| | 実施例2の 本発明の化合物 4DOBP-2,8 (Br) | 実施例4の 本発明の化合物 4DOBP-4,8 (Br) | 実施例7の 本発明の化合物 4DOBP-2A- 2,8 (Br) | 対照化合物 ベンザルコ ニウム |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27583 | 12.8 | 6.4 | 12.8 | 51.2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145 | 6.4 | 3.2 | 6.4 | 51.2 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3080 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 102.4 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 12.8 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883 | 0.8 | 1.6 | 0.8 | 102.4 |
| <i>Proteus rettgeri</i> NIH 96 | 3.2 | 1.6 | 3.2 | 51.2 |
| <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 | 0.2 | 0.8 | 0.2 | 16.4 |
| <i>Proteus mirabilis</i> IFO 3849 | 25.6 | 6.4 | 6.4 | 204.8 |
| <i>Escherichia coli</i> K12 OUT 8401 | 0.8 | 1.6 | 0.8 | 12.8 |
| <i>Escherichia coli</i> K12 W3110 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 25.6 |
| <i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 6.4 |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 0.4 | 0.8 | 0.4 | 6.4 |
| <i>Bacillus cereus</i> IFO 3001 | 0.8 | 0.4 | 0.4 | 6.4 |
| <i>Micrococcus luteus</i> IFO 12708 | 0.8 | 1.6 | 0.8 | 6.4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732 | 0.2 | 0.4 | 0.2 | 6.4 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> JCI (MRSA) | 0.4 | 1.6 | 0.4 | 12.8 |

試験例2 <本発明の化合物(1)の各種細菌に対する殺菌活性(MBC)>

本発明の化合物の例として、4DOBP-2, 8 (Br)、4DOBP-4, 8 (Br) および4DOBP-2A-2, 8 (Br) を用いた。対照化合物にはヨウ化ベンザルコニウムを用いた。

供試菌としてグラム陰性菌5種およびグラム陽性菌4種を用い、前記と同様にして最小殺菌濃度(MBC)を測定した。その結果を表2に示す。

表2: 殺菌スペクトル

| 供試菌: 細菌類 | MBC (μ M) a) | | | |
|--|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| | 実施例2の本発明の化合物 4DOBP-2,8 (Br) | 実施例4の本発明の化合物 4DOBP-4,8 (Br) | 実施例7の本発明の化合物 4DOBP-2A-2,8 (Br) | 対照化合物 ベンザルコニウム ^{b)} |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27583 | 12.5 | 6.4 | 6.4 | 204.8 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 102.4 |
| <i>Proteus rettgeri</i> NIH 96 | 0.8 | 0.4 | 0.8 | 51.2 |
| <i>Escherichia coli</i> K12 OUT 8401 | 1.6 | 0.8 | 1.6 | 51.2 |
| <i>Escherichia coli</i> K12 W3110 | 1.6 | 1.6 | 0.8 | 204.8 |
| <i>Bacillus subtilis</i> IFO 3134 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 1.6 |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 | 0.4 | 0.2 | 0.2 | 0.8 |
| <i>Bacillus cereus</i> IFO 3001 | 3.2 | 1.6 | 1.6 | 25.6 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> IFO 12732 | 0.8 | 0.4 | 0.4 | 6.4 |

a) MBCは希釈法で行った。30℃、30分。

b) ベンザルコニウム: ヨウ化ベンザルコニウム

試験例3 <真菌に対する最小発育阻止濃度(MIC)の測定>

本発明の化合物(1)の例として、4DOBP-2, 8 (Br)、4DOBP-4, 8 (Br) および4DOBP-2A-2, 8 (Br) を用いた。対照化合物にはTBZ(2-(4'-チアゾリル)ベンズ

イミダゾール)を用いた。

- 最小発育阻止濃度 (MIC) の測定は、一般的なブロス希釈法に従い、サブロー培地を用い、前培養した供試菌を湿潤剤添加殺菌水で孢子液を調製した。希釈薬剤溶液 1 ml と孢子液 1 ml を混合し、インキュベーター中で 30 °C、1 週間培養後、増殖の有無を濁度で判定し、濁度を生じていないところを MIC とした。その結果を表 3 に示す。

表 3：抗微生物スペクトル

| 供試菌：細菌類 | MIC (μ M) ^{a)} | | | |
|--|---|---|---|----------------------------|
| | 実施例 2 の 本発明の化合物 4DOBP-2,8 (Br) | 実施例 4 の 本発明の化合物 4DOBP-4,8 (Br) | 実施例 7 の 本発明の化合物 4DOBP-2A- 2,8 (Br) | 対照化合物 TBZ ^{b)} |
| <i>Aspergillus niger</i> TSY 0013 | 25.6 | 12.8 | 12.8 | 102.4 |
| <i>Aspergillus niger</i> IF0 6341 | 6.4 | 3.2 | 6.4 | 25.6 |
| <i>Aspergillus terreus</i> IF0 6346 | 3.2 | 6.4 | 3.2 | 25.6 |
| <i>Aureobasidium pullulans</i> IF0 6353 | 1.6 | 1.6 | 1.6 | 0.8 |
| <i>Chaetomium globosum</i> IF0 6347 | 0.8 | 0.4 | 0.8 | 3.2 |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i> IF0 6348 | 3.2 | 3.2 | 1.6 | 3.2 |
| <i>Gliocladium virides</i> IF0 6355 | 0.8 | 0.4 | 0.8 | 3.2 |
| <i>Penicillium funiculosum</i> IF0 6345 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 1.6 |
| <i>Rhizopus nigricans</i> SN 32 | 12.8 | 6.4 | 12.8 | 102.4 < |
| <i>Trichoderma virides</i> IF0 30498 | 6.4 | 6.4 | 6.4 | 51.2 |

a) MIC はサブロー培地を用い、ブロス希釈法で測定した。30 °C、7 日間。

b) TBZ：2 - (4' - チアゾリル) ベンズイミダゾール

産業上の利用可能性

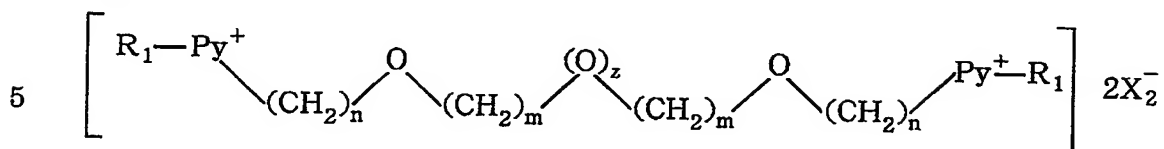
本発明の抗菌活性を有する新規なビス第四級アンモニウム塩化

合物は、上記試験例からも明らかなように、既知の第四級アンモニウム塩化合物に比べて、極めて優れた殺菌効果と広い抗菌スペクトルを示し、かつ安全性も高い。

請 求 の 範 囲

1. 下記一般式(1)で表されることを特徴とする抗菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物。

一般式(1)



(上記式中、Pyはピリジン環あるいは縮合ピリジン環を、 R_1 はPyの窒素原子に結合した炭素数6～18のアルキル基を示し、いずれも置換基を含んでもよい。Zは0または1を、mは1、2または3を、nは0、1または2を示し、 X_2 はアニオンを示す。)

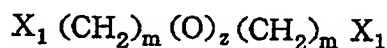
10 2. 下記一般式(2)で表される4-置換ピリジン系化合物のアルコールと、下記一般式(3)で表されるジハロゲノアルキレンを反応させ、ついで一般式 R_1X_2 (R_1 は炭素数6～18のアルキル基を示し、置換基を含んでもよい。 X_2 はアニオンを示す。)で表される化合物を反応させることを特徴とする下記一般式(1)で表される抗
15 菌活性を有する新規な第四級アンモニウム塩化合物の製造方法。

一般式(2)

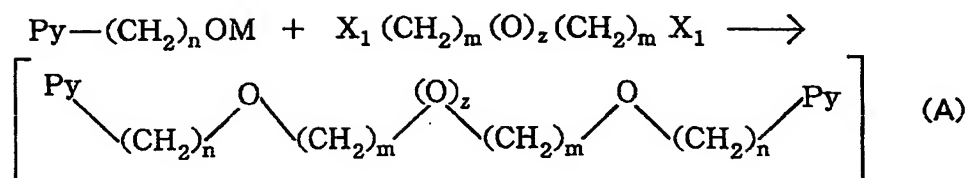


(上記式中、Pyはピリジン環あるいは縮合ピリジン環を示し、nは0、1または2を、Mはアルカリ金属原子を示す。)

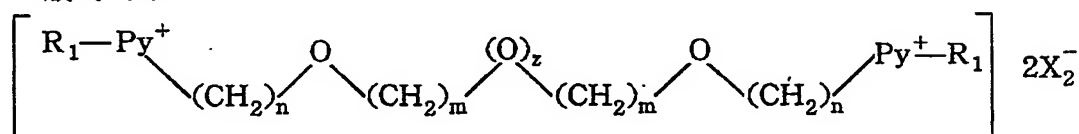
一般式(3)



20 (上記式中、 X_1 はハロゲン原子を示し、mは1、2または3を、Zは0または1を示す。)



一般式 (1)



- (上記式中、Py はピリジン環あるいは縮合ピリジン環を、R₁ は Py の窒素原子に結合した炭素数 6 ~ 18 のアルキル基を示し、いずれも置換基を含んでもよい。Z は 0 または 1 を、m は 1、2 または 3 を、
- 5 n は 0、1 または 2 を示し、X₂ はアニオンを示す。)

3. 請求項 1 に記載した一般式 (1) で表される新規な第四級アンモニウム塩化合物を有効成分として含有することを特徴とする抗菌剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000284

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ C07D213/30, 213/68, A61K31/444, A61P31/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ C07D213/30, 213/68, A61K31/444, A61P31/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
REGISTRY (STN), CAPLUS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X Y | EP 0998851 A1. (INUI CORP.), 10 May, 2000 (10.05.00), Full text; in particular, Par. No. [0024]; Claims & JP 2000-198879 A | 1, 3 1-3 |
| Y | JP 6-321902 A (Otsuka Chemical Co., Ltd.), 22 November, 1994 (22.11.94), Full text; in particular, Claims 1 to 3 (Family: none) | 1, 2 |
| Y | JP 8-301703 A (Otsuka Chemical Co., Ltd.), 19 November, 1996 (19.11.96), Full text; in particular, Claims 1, 2 (Family: none) | 1 |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

| | |
|---|--|
| * Special categories of cited documents: | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention |
| "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance | "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone |
| "E" earlier document but published on or after the international filing date | "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art |
| "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) | "&" document member of the same patent family |
| "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means | |
| "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | |

| | |
|--|---|
| Date of the actual completion of the international search 03 March, 2004 (03.03.04) | Date of mailing of the international search report 23 March, 2004 (23.03.04) |
|--|---|

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000284

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| Y | Jerry, MARCH., ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY REACTIONS, MECHANISMS, AND STRUCTURE., 3rd EDITION, Wiley-Interscience Publication, 1985, pages 342 to 343 | 2 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/000284

<With respect to search through prior art documents>

In the general formula (1) shown in claims 1-3, the positions in which the groups R1 and the chain connecting group are bonded as substituents to the pyridine rings are not specified. However, the only case which is disclosed in the description in the meaning of Article 5 of the PCT and is supported by the description in the meaning of Article 6 of the PCT is one in which the groups R1 are bonded to the nitrogen atoms of the respective pyridine rings and the chain group is bonded to a carbon atom of each pyridine ring.

Therefore, in this international search report, a search was made, by reference to the statements in the description, through prior art documents with respect to the part which is disclosed in the description in the meaning of Article 5 of the PCT and is supported by the description in the meaning of Article 6 of the PCT, i.e., the only case where the groups R1 are bonded to the nitrogen atoms of the respective pyridine rings and the chain group is bonded to a carbon atom of each pyridine ring.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07D213/30, 213/68, A61K31/444, A61P31/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07D213/30, 213/68, A61K31/444, A61P31/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
REGISTRY (STN), CAPLUS (STN).

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| X Y | EP 0998851 A1 (INUI CORPORATION) 2000.05.10 全文献、特に、段落番号【0024】、請求の範囲などを参照。 & JP 2000-198879 A | 1, 3 1-3 |
| Y | JP 6-321902 A (大塚化学株式会社) 1994.11.22 全文献、特に請求の範囲1~3などを参照。 (ファミリーなし) | 1, 2 |
| Y | JP 8-301703 A (大塚化学株式会社) 1996.11.19 全文献、特に請求の範囲1、2などを参照。 | 1 |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03.03.2004

国際調査報告の発送日

23.3.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齋藤 恵

4 P

3337

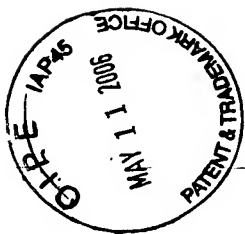
電話番号 03-3581-1101 内線 3492

| C (続き) . 関連すると認められる文献 | | |
|-----------------------|--|------------------|
| 引用文献の カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示 | 関連する 請求の範囲の番号 |
| Y | (ファミリーなし。) Jerry, MARCH. ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY REACTIONS, MECHANISMS, AND STRUCTURE. 3rd EDITION, Wiley-Interscience Publication, 1985, p.342-343 | 2 |

<先行技術文献調査について>

請求の範囲1～3に記載された一般式(1)では、基R1や鎖状連結基のピリジン環上での置換位置が特定されていないが、PCT第5条の意味において明細書に開示され、また、PCT第6条の意味において明細書により裏付けられているのは、基R1がピリジン環の窒素原子に結合し、かつ鎖状基はピリジン環の炭素原子に結合したもののみである。

したがって、本国際調査報告においては、明細書の記載も参考にし、PCT第5条の意味において明細書に開示され、また、PCT第6条の意味において明細書により裏付けられた部分、すなわち、基R1がピリジン環の窒素原子に結合し、かつ鎖状基はピリジン環の炭素原子に結合している場合に限定して先行技術調査を行った。



THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)